

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

ALLEN TRANSLATION SERVICE  
Translated from Japanese

T6103

- =====
- (19) JAPANESE PATENT OFFICE (JP)
- (12) Official Gazette for Laid-Open Patent Applications (A)
- (11) Japanese Laid-Open Patent Application (Kokai) No. 4-169514
- (51) Int.Cl.5 Ident. Symbols Internal Office Nos.

A 61 K 7/00	X	9051-4C
	C	9051-4C
	F	9051-4C

(43) Laying-Open Date: 17 June 1992

Request for Examination: Not yet requested

Number of Claims: 1 (Total of 7 pages)

(54) Title of the Invention: A Topical Skin Agent

(21) Application No.: 2-295677

(22) Application Date: 1 November 1990

(72) Inventor: Kenji Kitamura  
c/o Shiseido Research Laboratories  
Company, Ltd.  
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku  
Yokohama-shi, Kanagawa-ken

(72) Inventor: Taiichi Nakamura  
c/o Shiseido Research Laboratories  
Company, Ltd.  
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku  
Yokohama-shi, Kanagawa-ken

(71) Applicant: Shiseido Company, Ltd.  
5-5 Ginza 7-chome, Chuo-ku  
Tokyo-to

Specification

1. Title of the Invention

A Topical Skin Agent

2. Claim

(1) A topical skin agent characterized in that it contains one or two or more substances selected from protease inhibitors and one or two or more substances selected from ketoses.

### 3. Detailed Description of the Invention

(Field of industrial use)

This invention relates to a topical skin agent, and, in greater detail, it relates to a topical skin agent that prevents or relieves skin roughness, that has a superior beautifying whitening effect on skin and that is of high safety.

(Prior art)

Various types of pharmacologically effective components are compounded in topical skin agents. One of these pharmacological effects is prevention of skin roughness, a relieving effect on skin roughness and a beautifying whitening effect. Topical skin agents such as cosmetic materials have been sought for these objectives.

Various raw materials extracted from natural substances, for example, proteins, polysaccharides, extracts and natural polymers are characterized by these effects on use, for which reason they have conventionally been compounded in topical skin agents.

(Problems the invention is intended to solve)

However, these effects are not sufficient and there has been a special desire for the development of a pharmacologically effective agent of superior effectiveness.

This invention was developed in the light of the aforementioned problems of the conventional technology. Its objective is to provide a topical skin agent that has increased effectiveness in preventing and relieving skin roughness and that also has a beautifying whitening effect.

In order to accomplish this objective, the inventors conducted intensive and repeated research for the purpose of obtaining substances of superior effectiveness in preventing and relieving skin roughness and also of a beautifying whitening effect. As a result, they discovered that substances obtained by compounding one or two or more protease inhibitors and one or two or more ketoses are extremely effective against hypertrophic skin thickening, dryness accompanied by erythema and exfoliative changes and that they also effectively prevent and relieve chromopexy.

The inventors further perfected this invention on the basis of the aforementioned findings.

(Means for solving the problems)

Specifically, this invention is a topical skin agent characterized in that it contains one or two or more substances selected from protease inhibitors and one or two or more substances selected from ketoses.

We shall now describe the structure of this invention.

Proteases or protein degrading enzymes are general terms for enzymes that catalyze the hydrolysis of peptide bonds. Proteases are classified into peptidases and proteinases. The former are enzymes that sever peptide bonds from the exterior of the amino group terminals or carboxyl group terminals of proteins or peptide chains and the proteinases are enzymes that cut specified bonds inside the peptide chain. These proteases, frequently referred to as "proteases" in a broad sense, can be divided into four types depending on the properties of their active sites, i.e., 1) serine, 2) thiol (cysteine), 3) carboxyl and 4) metal proteases, and exist as unique inhibitory agents.

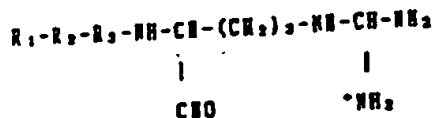
The term protease inhibitor in this invention signifies all chemical substances that reversibly or irreversibly inhibit the hydrolytic action of the aforementioned proteases or protein degrading enzymes.

The following are examples of the principal substances of this kind.

- (1) Compounds originating from animals or plants

Desirable examples include bovine pancreatic trypsin inhibitor, aprotinin, soybean trypsin inhibitors, lima bean protease inhibitor and corn protease inhibitor.

- (2) Desirable examples include antipain, plasminostreptin and compounds generally designated as leupeptin as indicated by the following general formulas.



$R_1 = CH_2CO, CH_2CH_2CO$

$R_2 = L\text{-Leu}, L\text{-Ile}, L\text{-Val}$

$R_3 = L\text{-Leu}, L\text{-Ile}, L\text{-Val}$

(Leu: 849) Ile: 479499 Val: 899)

(Leu: leucine; Ile: isoleucine; Val: valine)

- (3) Benzamidine and derivatives thereof

Desirable examples include benzamidine, p-aminobenzamidine, m-aminobenzamidine, phenylguanosine, (2R,4R)-4-methyl-1-[N<sup>2</sup>-(3-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-quinolinesulfonyl)-L-alginy]-2-piperidine carboxylic acid monohydrate and dansyl arginine N-(3-ethyl-1,5-pentanedyl)amide.

## (4) Acetamide and derivatives thereof

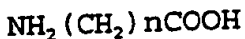
Desirable examples include acetamide, 2-phenylacetamide and cyclohexyl kai[phonetic]\* oxamide. [Translator's note: there appears to be a misprint in the preceding term]

## (5) Guanidine and derivatives thereof

Desirable examples include phenylguanidine and cyclohexylguanidine.

(6)  $\omega$ -Amino acids

Desirable examples include tranexamic acid, p-aminomethyl benzoic acid, 4-aminomethylbicyclo(2,2,2)octan-1-carboxylic acid, 5-[trans-4(aminomethyl) cyclohexyl]tetrazole, 3-[trans-4(aminomethyl) cyclohexyl-2-oxopropionate, trans-4-(aminomethyl) cyclohexyl glyoxal monohydrate, trans-4-(aminomethyl) cyclohexyl hydroxamic acid or substances having carbon chains as indicated by the following formula in which  $n = 1$  to 8.



Of these  $\omega$ -amino acids, tranexamic acid and p-aminomethyl benzoic acid are particularly effective.

## (7) Fluorophosphoric acid and derivatives thereof.

Diisopropylfluorophosphoric acid is a desirable example.

## (8) Fluorosulfonic acid and derivatives thereof

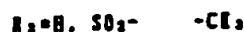
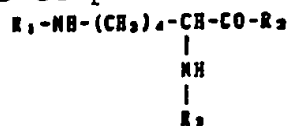
Desirable examples include phenylmethane sulfonyl fluoride and [(p-amidinophenyl) methane sulfonyl fluoride.

## (9) Guanidinobenzoic acid and derivatives thereof

Desirable examples include p-nitrophenyl-p'-guanidonobenzoic acid, 3',6'-bis(4-guanidinobenzoyloxy)-5-(N'-4-carboxyphenyl)thioureidospiro[isobenzofurane-1 (3H) and 9'-(9H)xanthene]-3-one.

## (10) Lysine and derivatives thereof

Desirable examples include compounds as indicated by the general formulas indicated below.



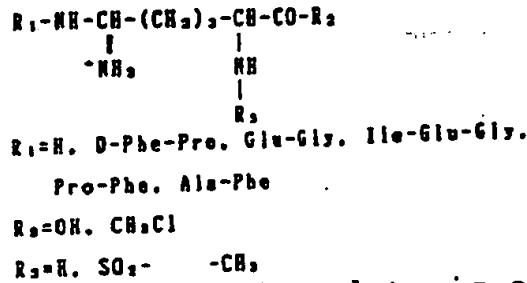
\*Translator's note: Transliterated phonetically from the Japanese. As such, the spelling may differ from other transliterations.

(Phe: phenylalanine; Ala: alanine

This invention is not limited to these substances. However, among lysine and derivatives thereof,  $R_2=CH_2Cl$  is particularly desirable.

(11) Arginine and derivatives thereof.

Desirable examples include compounds as represented by the general formulas below.



(Phe: phenylalanine; Pro: proline; Glu: glutamic acid;  
 Gly: glycine; Ile: isoleucine; Ala: alanine)

The ketoses that can be used in this invention include erythrulose, ribulose, xylulose, psicose, fructose, sorbose and tagatose.

In this invention, the effect of preventing and relieving skin roughness and the beautifying whitening effect can be further improved by the combined use of one or two or more substances selected from the aforementioned protease inhibitors and of one or two or more substances selected from ketoses,

In this invention, the quantity of protease inhibitor compounded with the topical skin agent should be 0.0001 to 10 wt %, and, preferably, 0.001 to 5 wt %, of the total amount of the composition. When it is less than 0.0001 wt %, the effect of this invention is not sufficient. When it exceeds 10 wt %, there is no improvement in the preparation and it is disadvantageous from the standpoint of cost. The quantity of ketose that is compounded should be 0.01 to 10 wt % of the total amount of the skin topical agent.

As required, various components, such as, aqueous components, humectants, thickeners, ultraviolet absorbents, preservatives, antioxidants, fragrances, pigments, drugs and crude drugs that are commonly used in cosmetic materials, topic medicinal drug products and medicinal drug products can be compounded with the topical skin agent of this invention in addition to the aforementioned essential components within ranges that do not impair the effectiveness of the invention.

The topical skin agent of this invention may be of any desired type. For example, it may be any type of preparation including solubilized systems such as toilet water, emulsified systems such as emulsions and creams, ointments, powder dispersions, water-oil two layer systems and water-oil-powder three layer systems.

[Examples]

We shall now describe this invention in detail by means of examples. However, this invention is not limited by these examples.

Before presenting the examples, we shall describe the experimental method and evaluation methods that were used in this invention.

Practical use test

The effectiveness of the topical skin agent of this invention as a result of topical application was evaluated on the basis of the improvement rates for skin roughness, razor [rash] and chromopexy.

Effectiveness in improving skin roughness

Lotions of the compositions shown in Table 1 were applied to the faces [poorly legible- Translator] of 60 test subjects who complained of rough skin or of a burning sensation of the skin following sunburn. Visual observations of the state of the skin were made after two weeks. In addition, lotions of the compositions shown in Table 1 were applied immediately after shaving to 60 male test subjects with razor rash and evaluations were made of their effectiveness in combating razor rash. The standards of evaluation are shown below.

Effectiveness in improving skin roughness

Markedly effective: Cases in which symptoms were eliminated.  
 Effective: Cases in which symptoms were lessened.  
 Somewhat effective: Cases in which symptoms were somewhat lessened.  
 Ineffective: Cases in which no change was found in symptoms.

Effectiveness in improvement in razor rash

Markedly effective: Cases in which razor rash was eliminated  
 Effective: Cases in which razor rash was extremely improved  
 Somewhat effective: Cases in which razor rash was somewhat improved  
 Ineffective: Cases in which no changes were found in razor rash

## (Evaluations)

- ⊙: Proportion (efficacy rate) of test subjects for whom the evaluations of markedly effective, effective and somewhat effective was 80% or greater
- O: Proportion (efficacy rate) of test subjects for whom the evaluations of markedly effective, effective and somewhat effective was 50% to 80%
- Δ: Proportion (efficacy rate) of test subjects for whom the evaluations of markedly effective, effective and somewhat effective was 30% to 50%
- X: Proportion (efficacy rate) of test subjects for whom the evaluations of markedly effective, effective and somewhat effective was less than 30%

Table 1

	Example 1	Example 2	Example 3	Comparative Example 1
Tranexamic acid	1.0	-	1.0	1
Fructose	1.0	1.0	-	-
Glycerol	10.0	10.0	10.0	10.0
1,3-butylene glycol	4.0	4.0	4.0	4.0
Ethanol	7.0	7.0	7.0	7.0
Polyoxyethylene (20 mol) oleyl alcohol ether	0.5	0.5	0.5	0.5
Purified water	Remainder	Remainder	Remainder	Remainder

Table 2

Component	Example 1	Example 2	Example 3	Comparative Example 1
Effectiveness in improving rough skin	⊙	Δ	O	X
Effectiveness in improving razor rash	⊙	Δ	O	X

As should be evident from Table 2, the lotions of this invention in which tranexamic acid and fructose were compounded exhibit effects on skin roughness and razor rash superior to those of the blank lotion.



### Experiment on improving effects of skin roughness

Experiments on improving effects of skin roughness were carried out by a panel of individuals using the lotions obtained in Examples 1 to 3 and that of Comparative Example 1. Specifically, the state of the surface of the skin (face) of healthy women was observed under the microscope (17x magnification) by collecting skin replicas using the replica method with mirisun [phonetic] resin. The lotions obtained in Examples 1 through 3 and the lotion of Comparative Example 1 were applied once a day for two weeks to the left and right halves of the faces of 20 individuals for whom skin roughness evaluations of 1 or 2 (skin roughness panel) were made on the basis of the standards shown in Table 3 from the state of striae and the state of peeling of the stratum corneum. After 2 weeks, the state of the skin was again observed by the aforementioned replica method and evaluations were made in accordance with the standards of evaluation shown in Table 3.

Table 3

Score	Evaluation	Remarks
1	Thinning of skin, elimination of caruncles, stripping of a broad range of stratum corneum	Rough skin
2	Thinning of skin, caruncles indistinct, stripping of stratum corneum	
3	Thinning of skin, caruncles found, but level	
4	Thinning of skin, caruncles distinct	Beautiful skin
5	Thinning of skin, distinct and regular	

Table 4

Replica evaluation	Example 1	Example 2	Example 3	Comparative Example 1
1	0	0	0	10
2	0	0	0	9
3	2	12	6	1
4	14	8	10	0
5	4	0	4	0

As can be seen from Table 4, the lotions of this invention provided improving effects on skin roughness markedly superior to those of the blank lotion.

## Effectiveness against chromopexy

&lt; Experiments on pharmacological effectiveness &gt;

## Effectiveness against chromopexy and side effects

8 MOP treated phototoxic chromopexy Veiser Maple GP was used and amounts of 50  $\mu$ l of test sample were applied once a day for 8 weeks to an area of approximately 4 cm<sup>2</sup> of the shaved backs of the subjects. Effectiveness against chromopexy and degree of increase in pigment as a side effect were expressed by the 4-point evaluation method shown in Table 5 (score of + indicates effectiveness in decoloration; score of - indicates side effects). The samples that were used were aqueous solution of ascorbic acid and a mixed aqueous solution of tranexamic acid and fructose.

Table 5. Scores: Decoloration Effectiveness and Chromopexy

	Evaluation	Score	Visual Evaluation
Effectiveness against chromopexy	+	3	Became white
	±	2	Somewhat white
	--±	1	Became very slightly white
	-	0	Did not change
Side effects, increase in pigment	-	0	Did not change
	--±	-1	Became somewhat black
	±	-2	Became black
	+	-3	Became distinctly black

Table 6

Drug	No. of days of application (weeks)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Ascorbic acid	0.3	0.6	1.0	0.7	0.2	0.1	-0.2	-0.4
This product	0.7	0.6	2.1	2.2	2.1	2.2	2.1	2.0

As should be evident from Table 6, chromopexy occurred as a side effect as a result of the long-term use of ascorbic acid. By contrast, with the mixed aqueous solution of tranexamic acid and fructose, there was a superior decoloration effect. In addition, no side effects occurred as a result of long-term use.

< Practical use experiment >

One-hundred test subjects having chromopexy of the face were used as the panel. The products of Examples 1 to 3 were used on 25 subjects each and the product of Comparative Example 1 was used on the remaining 25 subjects. They were applied to the face 2 to 3 times a day. After 3 months of continuous use, visual observations of effectiveness in lightening skin shade were made by a physician.

Table 7

Overall degree of improvement		Freckles	Liver Spots	Senile pigmental spots	Other	Totals	Efficacy rate
Example 1	Very improved	5	5	2	0	12	80%
	Somewhat improved	2	2	3	1	8	
	No change	1	1	2	1	5	
	Aggravated	0	0	0	0	0	
	Tot. no. persons	8	8	7	2	25	
Example 2	Very improved	2	2	2	0	6	48%
	Somewhat improved	2	2	1	1	6	
	No change	4	4	4	1	13	
	Aggravated	0	0	0	0	0	
	Tot. no. persons	8	8	7	2	25	
Example 3	Very improved	3	3	2	0	8	64%
	Somewhat improved	1	2	3	2	8	
	No change	4	3	2	0	9	
	Aggravated	0	0	0	0	0	
	Tot. no. persons	8	8	7	2	25	
Example 4	Very improved	0	0	0	0	0	12%
	Somewhat improved	1	1	1	0	3	
	No change	7	7	6	2	22	
	Aggravated	0	0	0	0	0	
	Tot. no. persons	8	8	7	2	25	

\* Efficacy rate in the table indicates the proportion accounted for by "somewhat improved" or better relative to the total number of cases.

As should be evident from Table 7, the findings suggest that chromopexy antagonizing agents in which tranexamic acid and fructose are compounded have marked effectiveness against various types of chromopexy such as freckles, liver spots and senile pigmental spots.

Example 4; Toilet water	Wt %
(1) Tranexamic acid	0.001
(2) Glycerol	1.0
(3) Fructose	4.0
(4) Ethanol	7.0
(5) Polyoxyethylene (20 mol) oleyl alcohol ether	0.5
(6) Methylparaben	0.05
(7) Citric acid	0.01
(8) Sodium citrate	0.1
(9) Fragrance	0.01
(10) Purified water	Remainder

(Preparation method)

(1), (2), (3), (7) and (8) were dissolved in purified water. Separately, (5), (6) and (9) were dissolved in ethanol and this solution was added to and dissolved in the aforementioned solution of purified water. This solution was then passed through a filter and toilet water was obtained.

Example 5; Cream	Wt %
(1) Cetostearyl alcohol	3.5
(2) Squalane	30.0
(3) Beeswax	3.0
(4) Reduced lanolin	5.0
(5) Ethylparaben	0.3
(6) Polyoxyethylene (20 mol) oleyl alcohol ether	2.0
(7) Stearic acid monoglyceride	2.0
(8) Tosyl lysine chloromethyl ketone	0.1
(9) Fragrance	0.03
(10) Erythrulose [NOTE: misspelled in Japanese]	5.0
(11) Glycerol	15.0
(12) Purified water	Remainder

(1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8) and (9) were heated and dissolved and the solution, which was maintained at 75°C, was added to (10), (11) and (12), which were heated to 75°C, as the materials were being stirred. The mixture was cooled as it was being stirred and emulsified in an homogenizer and a cream was obtained.

<b>Example 6; Pack</b>	<b>Wt %</b>
(1) Tranexamic acid	5.0
(2) Polyvinyl alcohol	10.0
(3) Sorbose	3.0
(4) Propylene glycol	7.0
(5) Ethanol	10.0
(6) Methylparaben	0.05
(7) Erythrulose	5.0
(8) Fragrance	0.05
(9) Purified water	Remainder

(3), (4), (6) and (7) were dissolved in (9) as the materials were being stirred. Next, (2) was added and the mixture was heated and stirred. (5), in which (8) was dissolved, and (1) were then added and dissolved by stirring, with a pack being obtained.

<b>Comparative Example 7; Solid face powder</b>	<b>Wt %</b>
(1) Talc	85.4
(2) Stearic acid	1.5
(3) Lanolin	5.0
(4) Squalane	5.0
(5) Sorbitan sesquioleic acid ester	2.0
(6) Triethanolamine	1.0
(7) Fructose	5.0
(8) Tosyl arginine chloromethyl ketone	0.1
(9) Pigment	Suitable quantity
(10) Fragrance	Suitable quantity

The talc and pigment were thoroughly mixed with a kneader (powder component). 50% of triethanolamine was added to a suitable quantity of purified water and maintained at 70° (aqueous phase). The other components except for the fragrance were mixed, heated and dissolved and maintained at

70°C (oleaginous phase). The oleaginous phase was added to the aqueous phase and the mixture was uniformly emulsified with an homogenizer, the emulsion was added to the powder component and the mixture was kneaded together with a kneader, after which the aqueous component was evaporated and treated with a pulverizer. The fragrance was uniformly atomized [poorly legible - Translator] as the materials were being well stirred. They were then compression molded.

Example 8; Lipstick	Wt %
(1) Microcrystalline wax	1.0
(2) Beeswax	2.0
(3) Lanolin	2.0
(4) Liquid paraffin	20.0
(5) Squalane	10.0
(6) Sorbitan sesquioleic acid ester	4.0
(7) Polyoxyethylene (20 mol) sorbitan sesquioleic acid ester	4.0
(8) Fructose	1.0
(9) Leupeptin	0.001
(10) Tranexamic acid	1.0
(11) Preservative, antioxidant	Suitable quantity
(12) Fragrance	Suitable quantity
(13) Ion exchange water	Remainder

An emulsified composition was prepared by a standard method.

Example 9; Toilet water		Wt %
(1)	95% ethanol	25.0
(2)	Polyoxethylene (40 mol) hardened castor oil	4.0
(3)	Preservative, antioxidant	Suitable quantity
(4)	Fragrance	Suitable quantity
(5)	Dipropylene glycol	12.0
(6)	Glycerol	5.0
(7)	Arabitol	7.0
(8)	Leupeptin	0.1
(9)	Fructose	2.0
(10)	Ion exchange water	Remainder

The aqueous phase and the alcohol phase were solubilized after adjustment [poor legibility - Translator].

Examples 4 to 9 provided substances of high safety that exhibited superior skin roughness preventing and improving effects and superior beautifying and whitening effects on the skin.

Applicant: Shiseido Company, Ltd.

◎日本国特許庁(JP)

◎特許出願公開

◎公開特許公報(A) 平4-169514

◎Int. Cl.<sup>3</sup>  
A 61 K 7/00

識別記号  
X  
C  
F  
庁内整理番号  
9051-4C  
9051-4C  
9051-4C

◎公開 平成4年(1992)6月17日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全7頁)

◎発明の名称 皮膚外用剤

◎特 題 平2-295677

◎出 題 平2(1990)11月1日

◎発 明 者 北 村 隆 始 神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株式会社資生堂研  
究所内

◎発 明 者 中 山 孝 一 神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株式会社資生堂研  
究所内

◎出 願 人 株式会社資生堂 東京都中央区銀座7丁目5番5号

明 書

1. 発明の名称  
皮膚外用剤

2. 特許請求の範囲

(1) プロテアーゼ阻害剤から選ばれる一種または二種以上と、ケトースから選ばれる一種または二種以上とを含有することを特徴とする皮膚外用剤。

3. 発明の詳細な説明

【産業上の利用分野】

本発明は皮膚外用剤、さらに詳しくは肌荒れを防止、改善し、また皮膚に対する美白効果に優れ、さらに安全性の高い皮膚外用剤に関する。

【従来の技術】

皮膚外用剤には種々の薬効成分が配合されている。その中で肌荒れ防止、肌荒れ改善効果および美白効果も薬効の一つであり、これらを目的とする化粧料等の皮膚外用剤が求められていた。

こうした中で従来は、天然物から抽出した各種

原料、たとえばタンパク質、多糖、抽出エキス、天然高分子等がその使用効果が特徴的であるため皮膚外用剤に配合されてきた。

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、その効果は十分ではなく、より優れた効果のある薬効剤の開発が望まれていた。

本発明は前記従来技術の問題点に着目なされたものであり、その目的は肌荒れ防止、肌荒れ改善効果により優れ、さらに美白効果をも併せ持った皮膚外用剤を提供することにある。

前記目的を達成するため、本発明者らは安全性に優れた物質の中から特に肌荒れを防止し、肌荒れを改善する効果に優れ、さらに美白効果をも有する物質を得るべく鋭意研究を重ねた結果、プロテアーゼ阻害剤の一種又は二種以上と、ケトースの一種又は二種以上とを配合することにより、増殖性の表皮肥厚、紅斑を伴う乾燥、痒痒性の発化に対して極めて有効であり、さらに色素沈着をも有効に防止、改善することを見出した。

本発明者らは上記知見に基づいて本発明を完成



するに至った。

【問題を解決するための手段】

すなわち、本発明はプロテアーゼ阻害剤から選ばれる一種または二種以上と、ケトースから選ばれる一種または二種以上とを含有することを特徴とする医薬外用剤である。

以下、本発明の構成について説明する。

プロテアーゼまたは蛋白質分解酵素は、ペプチド結合の加水分解を触媒する酵素を総称した名称である。このプロテアーゼは、ペプチダーゼおよびプロテイナーゼに分類される。前者は、蛋白質またはペプチド鎖のアミノ基末端側やカルボキシル基末端側の外側より、ペプチド結合を切り離していく酵素で、後者のプロテイナーゼはペプチド鎖の内側の特定の結合を切断する酵素である。また、このプロテイナーゼは習慣的に広義の「プロテアーゼ」の名称で呼ばれることが多く、さらにこれらはその活性部位の性質により、1)セリン系、2)チオール(システイン)系、3)カルボキシル系および4)金属系プロテイナーゼの4種類に大別され、そ

れぞれ特異的な阻害剤が存在している。

本発明におけるプロテアーゼ阻害剤とは、前記プロテアーゼまたは蛋白質分解酵素の加水分解作用を、可逆的もしくは不可逆的に阻害し得る全ての化学物質を意味する。

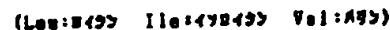
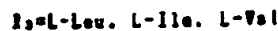
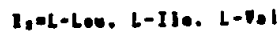
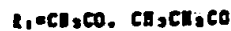
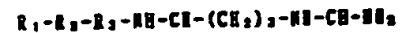
以下に主な物質を挙げる。

(1) 動物または植物由来の化合物

好ましくはウシ脾臓由来のトリプシンインヒビター、アプロチニン、ダイストリプシンインヒビター、リマ豆プロテアーゼインヒビター、トウモロコシプロテアーゼインヒビター等がある。

(2) 微生物由来の化合物

好ましくはアンチバイン、プラスミノストレプトン、さらには下記一般式で表わされるロイペプチンと総称される化合物等がある。



(3) ベンゼミジンおよびその誘導体

好ましくはベンゼミジン、p-アミノベンゼミジン、m-アミノベンゼミジン、フェニルグアニジン、(2R, 4R)-4-メチル-1-[N<sup>2</sup>-(3-メチル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-8-キノリンスルホニル)-L-アルギニル]-2-ピペリジンカルボキシリックアシッドモノヒドレート、ダンシルアルギニンN-(3-エチル-1, 5-ペンタネフル)アミド等がある。

(4) アセタミドおよびその誘導体

好ましくはアセタミド、2-フェニルアセタミド、シクロヘキシルカイオキサミド等がある。

(5) グアニジンおよびその誘導体

好ましくはフェニルグアニジン、シクロヘキシルグアニジン等がある。

(6) o-アミノ酸類

好ましくはトランスキサム酸、p-アミノメチル安息香酸、4-アミノメチルピシクロ(2, 2, 2-)オクタタン-1-カルボン酸、5-[トランス-4(アミノメチル)シクロヘキシル]テトラゾール、3-[トランス-4(アミノメチル)シクロヘキシル-2-オキソプロピオネート、トランス-4-(アミノメチル)シクロヘキシルグリオキサールモノヒドレート、トランス-4-(アミノメチル)シクロヘキサンヒドロキサミックアシッドまたは下記一般式においてn=1-8の炭素数を示す物質等がある。



これらo-アミノ酸の中で、トランスキサム酸およびp-アミノメチル安息香酸に特に優れた効果が見られる。

(7) フルオロリン酸およびその誘導体

好ましくはジイソプロピルフルオロリン酸がある。

(8) フルオロスルホン酸およびその誘導体

好ましくはフェニルメタンスルホニルフルオリ

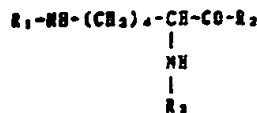
F、[(p-アミノフェニル)メタンスルホニルフルオリド等がある。

(9) グアニグノ安息香酸およびその誘導体

好ましくはp-ニトロフェニル-p'-グアニグノ安息香酸、3',6'-ビス(4-グアニグノベンゾイロキシ)-5-(N'-4-カルボキシフェニル)チオウレイドスピロ[イソベンゾフラン-1(3H),9'-(9H)キサンゼン]-3-オン等がある。

(10) リジンおよびその誘導体

好ましくは下記一般式で表わされる化合物等がある。



R<sub>1</sub>=H, Phe-Ala, Ala-Phe

R<sub>2</sub>=OH, CH<sub>2</sub>Cl

R<sub>3</sub>=H, SO<sub>2</sub>- -CH<sub>3</sub>

本発明に用いられるケトースとしては、エリトルコース、リアロース、キシロコース、アスコース、フルクトース、ソルボースおよびタガトース等が挙げられる。

本発明においては上記プロテアーゼ阻害剤の中から一種または二種以上と、ケトースの一種または二種以上とを併用して用いることで肌荒れ防止、改善効果および美白効果をより向上させることができる。

本発明においてプロテアーゼ阻害剤の皮膚外用剤への配合量は、原料物全量中0.0001~10重量%が好ましく、0.001~5重量%がより好ましい。0.0001重量%未満では本発明の効果が十分ではなく、10重量%を超えると製剤上好ましくなく、かつコスト的にも不利である。また併用するケトースの配合量は皮膚外用剤全量0.01~10重量%が好ましい。

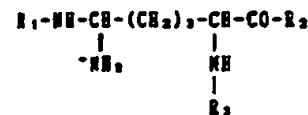
本発明の皮膚外用剤は前記の必須成分に加えて、必要に応じ、本発明の効果を損なわない範囲内で、化粧料、医薬部外品、医薬品等に一般に用いられ

(Phe:72=67922 Ala:7922)

本発明は、これらに限定されるものではないが、これらリジンおよびその誘導体の中でR<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>Clが特に好ましい。

(11) アルギニンおよびその誘導体

好ましくは下記一般式で表わされる化合物等がある。



R<sub>1</sub>=H, D-Phe-Pro, Glu-Gly, Ile-Glu-Gly,

Pro-Phe, Ala-Phe

R<sub>2</sub>=OH, CH<sub>2</sub>Cl

R<sub>3</sub>=H, SO<sub>2</sub>- -CH<sub>3</sub>

(Phe:72=67922 Pro:7079 Gly:96922)

Gly:9999 Ile:47049 Ala:7922)

上記アルギニンおよびその誘導体の中でR<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>Clに特に好ましい。

る各種成分、水性成分、保湿剤、増粘剤、紫外線吸収剤、防腐剤、酸化防止剤、香料、色剤、薬剤、生薬等を配合することができる。

また、本発明の皮膚外用剤の剤型は任意であり、例えば、化粧水等の可溶性系、乳液、クリーム等の乳化系あるいは軟膏、粉末分散系、水-油二層系、水-油-粉末三層系等どのような剤型でもかまわない。

【実施例】

次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。尚、本発明はこれによって限定されるものではない。

実施例に先立ち、本発明で用いた試験法、評価法を説明する。

皮膚用テスト

本発明に係わる皮膚外用剤の外用適用による効果を、肌荒れ、カミソリ負けおよび色素沈着に対する改善率から評価した。

肌荒れ改善効果

肌荒れあるいは日焼け後の肌のぼてりの調状で

個々被験者各80名で実施し、表-1に示す組成のローションを顔面に塗布し、2週間後肌状態を目視で判定した。またカミソリまげする男性被験者60名を対象に同判り直後に表-1に示す組成のローションを塗布し、カミソリまげに対する効果を判定した。各判定基準は以下の通りとした。

肌荒れに対する改善効果

- 有効：症状の消失したもの
- 有効：症状が弱くなったもの
- やや有効：症状がやや弱くなったもの
- 無効：症状に変化を認めないもの

カミソリまげに対する改善効果

- 有効：カミソリまげの消失したもの
- 有効：カミソリまげが非常に改善したもの
- やや有効：カミソリまげがやや改善したもの
- 無効：カミソリまげに変化を認めないもの

(判定)

- ：被験者が有効、有効およびやや有効を示す割合(有効率)が80%以上
- ：被験者が有効、有効およびやや有効を示す

- △：被験者が有効、有効およびやや有効を示す割合(有効率)が30%以上～50%未満
- ×：被験者が有効、有効およびやや有効を示す割合(有効率)が30%未満

(以下余白)

表-1

	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
トウネキサム酸	1.0	-	1.0	-
フルクトース	1.0	1.0	-	-
グリセリン	10.0	10.0	10.0	10.0
1-3-ブチレングリコール	4.0	4.0	4.0	4.0
エタノール	7.0	7.0	7.0	7.0
ポリオキシエチレン(20モル)オレイルアルコールエーテル	0.5	0.5	0.5	0.5
精製水	残量	残量	残量	残量

表-2

成分	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
肌荒れ改善効果	○	△	○	×
カミソリまげ改善効果	○	△	○	×

表-2から明らかなようにトウネキサム酸とフルクトースとを配合する本発明のローションはブランクローションより、肌荒れ、カミソリまげに

対して優れた改善効果を示した。

肌荒れ改善効果試験

実施例1-3で得たローションと比較例1を用いて人体パネルで肌荒れ改善効果試験を行った。即ち、女性健康人(顔面)の皮膚表面形態をミリステン樹脂によるレプリカ法を用いて肌のレプリカを取り、顕微鏡(17倍)にて観察する。反応の状態及び角層の剥離状態から表-3に示す基準に基づいて肌荒れ評価1、2と判断されたもの(肌荒れパネル)20名を用い、顔面左右半々に、実施例1-3で得たローションと比較例1を1日1回2週間塗布した。2週間後、再び上述のレプリカ法にて肌の状態を観察し、表-3の判定基準に従って評価した。

(以下余白)

表-3

評点	評価	備考
1	反応、反応の消失、 広範囲の角層のめくれ	美しい肌
2	反応、反応の不透明 角層のめくれ	
3	反応、反応は認めら れるが平坦	
4	反応、反応が透明	
5	反応、反応が透明で 整っている	

表-4

シリアカ評価	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
1	0	0	0	10
2	0	0	0	9
3	2	12	6	1
4	14	8	10	0
5	4	0	4	0

表-4から判るように、本発明のローションは  
ブランクローションと比較し、顕著な肌質改善  
効果が認められた。

抗色素沈着効果

<薬理効果試験>

抗色素沈着効果および副作用

8NOP処理光感型色素沈着剤Velsor Nodie GPを用  
いて、毛刈りした背部に50μLのテストサンプル  
を1日1回約4cm<sup>2</sup>の範囲に8週間塗布し、抗色  
素沈着効果および副作用としてあらわれた色素増  
強の程度を表-5に示した4点評価法(+の評価  
点は脱色効果、-の評価点は副作用)にて表した。  
使用サンプルはアスコルビン酸水溶液と、トラネ  
キサム酸とフルクトースの混合水溶液を用いた。

(以下空白)

表-5 評点 脱色効果及び色素沈着

	評点	評価	状態判定
抗色素沈着効果	+	3	白くなった
	±	2	やや白
	—±	1	わずかに白くなった
	-	0	変化なし
副作用・色素増強	-	0	変化なし
	—±	-1	やや黒くなった
	±	-2	黒くなった
	+	-3	明らかに黒くなった

<実使用試験>

顔面に色素沈着症を有する被験者100名をパネ  
ルとして、各々25名には実施例1~3を、残りの  
25名には比較例1を1日に2~3回顔面に使用せ  
せ、3か月連続使用後、医師により肉眼で脱色化  
効果の判定を行なった。

(以下空白)

表-6

	塗布回数(週)							
期間	1	2	3	4	5	6	7	8
アスコルビン酸	0.3	0.8	1.0	0.7	0.2	0.1	-0.2	-0.4
本品	0.7	1.8	2.1	2.2	2.1	2.2	2.1	2.0

表-6から明らかなように、アスコルビン酸は  
長期塗布により、副作用として色素沈着が起こる  
のに対し、トラネキサム酸とフルクトースの混合  
水溶液は脱色効果が優れるとともに、長期塗布に  
よる副作用を生じなかった。

表-7

症例	改善	肝斑	老人性 色素斑	その他	計	有効率
実施例1	かなり改善	5	5	2	0	12
	やや改善	2	2	3	1	8
	不変	1	1	2	1	5
	悪化	0	0	0	0	0
	人数合計	8	8	7	2	25
実施例2	かなり改善	2	2	2	0	6
	やや改善	2	2	1	1	6
	不変	4	4	4	1	13
	悪化	0	0	0	0	0
	人数合計	8	8	7	2	25
実施例3	かなり改善	3	3	2	0	8
	やや改善	1	2	3	2	8
	不変	4	3	2	0	9
	悪化	0	0	0	0	0
	人数合計	8	8	7	2	25
比較例1	かなり改善	0	0	0	0	0
	やや改善	1	1	1	0	3
	不変	7	7	6	2	22
	悪化	0	0	0	0	0
	人数合計	8	8	7	2	25

※表中の有効率は、「やや改善」以上が全症例に対して占める割合である。

表-7の結果から明らかなように、トラネキサ

ムとフルクトースを配合した状色素沈着剤は、五和糖、肝斑、老人性色素斑等、多量の色素沈着症に著しい効果を有することが示唆された。

実施例5 クリーム 重量%

- (1) セトステアリルアルコール 3.5
  - (2) スクワラン 30.0
  - (3) ミフロウ 3.0
  - (4) 還元ラノリン 5.0
  - (5) エチルバラベン 0.3
  - (6) ポリオキシエチレン 2.0
  - (20モル) オレイルアルコール
  - エーテル
  - (7) ステアリン酸モノグリセリド 2.0
  - (8) トシルリグンクロロメチルケトン 0.1
  - (9) 香料 0.03
  - (10) エルトルロース 5.0
  - (11) グリセリン 15.0
  - (12) 精製水 残量
- (1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)と(9)を加熱溶解し、75℃に保ったものを、75℃に加量し

ムとフルクトースを配合した状色素沈着剤は、五和糖、肝斑、老人性色素斑等、多量の色素沈着症に著しい効果を有することが示唆された。

実施例4 化粧水 重量%

- (1) トラネキサム酸 0.001
  - (2) グリセリン 1.0
  - (3) フルクトース 4.0
  - (4) エタノール 7.0
  - (5) ポリオキシエチレン 0.5
  - (20モル) オレイルアルコール
  - エーテル
  - (6) メチルバラベン 0.05
  - (7) クエン酸 0.01
  - (8) クエン酸ナトリウム 0.1
  - (9) 香料 0.01
  - (10) 精製水 残量
- (製法)

精製水に(1)、(2)、(3)、(7)、(8)を溶解する。別にエタノールに(5)、(6)、(9)を溶解

し、これを前記の精製水溶液に加えて溶解し、蒸過して化粧水を得た。

実施例6 バック 重量%

- (1) トラネキサム酸 5.0
- (2) ポリビニルアルコール 10.0
- (3) ソルボース 3.0
- (4) プロピレングリコール 7.0
- (5) エタノール 10.0
- (6) メチルバラベン 0.05
- (7) エリスリトール 5.0
- (8) 香料 0.05
- (9) 精製水 残量

(9)に(3)、(4)、(6)、(7)を加え攪拌する。次に(2)を加え加熱攪拌し、(8)を溶解した(5)および(1)を加え攪拌溶解してバックを得た。

実施例7 固型白 重量%

- (1) タルク 35.4

(2) ステアリン酸	1.5	実施例8	口紅	重量%
(3) ラノリン	5.0	(1) マイクロクリスタリンワックス		1.0
(4) スクワラン	5.0	(2) ミツロウ		2.0
(5) ソルビタンセスキ オレイン酸エステル	2.0	(3) ラノリン		2.0
(6) トリエタノールアミン	1.0	(4) 硬脂パラフィン		20.0
(7) フルクトース	5.0	(5) スクワラン		10.0
(8) トシルアルギニンクロロメチル ケトン	0.1	(6) ソルビタンセスキ オレイン酸エステル		4.0
(9) 顔料	適量	(7) ポリオキシエチレン (20モル) ソルビタン モノオレイン酸エステル		4.0
(10) 香料	適量	(8) フルクトース		1.0
タルク、顔料をニーダーで十分混合する。(粉 末部) トリエタノールアミンを 50%相当量の精 製水に加え70℃に保つ。(水相) 香料を除く他の 成分を混合し、加熱溶解して70℃に保つ。(油相) 水相に油相を加えホモキサーで均一に乳化し、 これを粉末部に加えニーダーで練り合わせた後、 水分を蒸発させ粉砕機で処理する。さらにこれを よくかきまぜながら香料を均一に噴霧し圧縮成形 する。		(9) ロイペプチン		0.001
		(10) トラネキサム酸		1.0
		(11) 防腐剤・酸化防止剤		適量
		(12) 香料		適量
		(13) イオン交換水		残量
		常法により乳化組成物を作成する。		

実施例9	化粧水	重量%
(1) 95%エタノール		25.0
(2) ポリオキシエチレン (40モル) 硬脂ひまし油		4.0
(3) 防腐剤・酸化防止剤		適量
(4) 香料		適量
(5) ジプロピレングリコール		12.0
(6) グリセリン		5.0
(7) アラビトール		7.0
(8) ロイペプチン		0.1
(9) フルクトース		2.0
(10) イオン交換水		残量
	水相、アルコール相を個別に可溶化する。	

実施例4～9は、肌荒れ防止、改善効果に優れ、  
また皮膚に対する美白効果にも優れる安全性の高  
いものであった。